

学位授与番号	甲第 1793 号
学位授与年月日	平成 18 年 6 月 30 日
氏 名	脇坂 晃子
学位論文題目	日本人結節性硬化症患者 10 人の TSC 遺伝子診断：臨床応用のための系統的遺伝子変異解析法の開発と検出感度の検定
論文審査委員	主 査 教 授 小泉 晶一
	副 査 教 授 金子 周一
	山田 正仁

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

結節性硬化症は、脳、皮膚、腎臓、心臓など全身の臓器に過誤腫を形成する常染色体優性遺伝病で、中枢神経病変は精神発達遅滞や難治性てんかん、自閉症などを引き起こし臨床的に問題となる。これまでに疾患責任遺伝子として第9番染色体長腕 9q34 の TSC1 と第16番染色体短腕 16p13.3 の TSC2 が同定され様々な遺伝子変異の報告がある。しかし、変異の検出率にはばらつきがあり、いずれの報告でも充分とは言えず実際の遺伝子診断は難航する。その理由として、①変異のホットスポットがない、②微細変異から大欠失まで変異のバリエーションに富む、③モザイク症例が少なからず存在する、などが考えられる。また多くの論文で変異のスクリーニングに採用されている SSCP (single-strand conformational polymorphism) 法、HD (Heteroduplex) 法の検出感度についても検討されていない。本研究では金沢大学医学部附属病院で管理中の日本人結節性硬化症患者 10 名に SSCP 法、HD 法、ダイレクトシーケンス法、Long PCR 法およびサザンブロット法を組み合わせた系統的アルゴリズムに従った遺伝子解析を行った。2 例で TSC1 遺伝子変異 (スプライス変異、大欠失)、6 例で TSC2 変異 (大欠失、スプライス変異、ミスセンス変異、フレームシフト変異 3 例) が同定された。一方で、対象患者の全ての TSC 翻訳領域エクソンの塩基配列を決定し、SSCP 法、HD 法の感度検定を行った。変異検出率は SSCP 法で 6/14 (43%)、HD 法で 5/14 (36%) であったが、互いに相補的な傾向が見られ両者を合わせた感度は 9/14 (64%) に上昇した。これにダイレクトシーケンス法、Long PCR 法、サザンブロット法や腫瘍細胞の遺伝子解析を併用する事で大欠失やモザイク例などの検出も可能となり最終的な検出率は 80% となった。また、臨床症状と遺伝子変異の相関では TSC1 症例および TSC2 モザイク例で臨床症状は軽症の傾向があった。今回の結果と過去の報告より本邦でも欧米と同様に TSC 変異は多種多様であり、変異のホットスポットは存在しないと考えられた。また SSCP 法や HD 法の検出感度は充分とは言えず、実際の臨床の場での結節性硬化症の DNA 診断には各種遺伝子検査法を合理的に配置した系統的な解析が必須であると結論された。以上、多彩な遺伝子異常が予想される疾患における異常の同定に、複数の方法を駆使して、系統的遺伝子変異解析アルゴリズムの開発を試みた労作で、学位論文に値すると判断された。